Piccolo® AmLyte 13

Nur für In-vitro-Diagnostik und professionelle Anwendung
Technischer Kundendienst: 800-822-2947
Kunden außerhalb den USA sollten sich an einen
Abaxis-Vertreter in ihrer Nähe wenden, um Kundenservice zu erhalten

Juli 2014
Art.-Nr.: 400-7205-1 Rev: A

1. Verwendungszweck

Die Piccolo® AmLyte 13 dient zur Anwendung mit dem Piccolo Xpress® Analysesystem für klinische Chemie zur quantitativen *in-vitro*-Bestimmung von Alanin-Aminotransferase (ALT), Albumin, Amylase, Aspartat-Aminotransferase (AST), Kalzium, C-reaktivem Protein (CRP), Kreatin-Kinase, Kreatinin, Glukose, Kalium, Natrium, Gesamtbilirubin und Harnstoff-Stickstoff (BUN) in Lithium-heparinisiertemVollblut, Lithium-heparinisiertem Plasma oder Serum in einem klinischen Labor oder einem Point of Care-Standort. Das CRP-Verfahren von Abaxis ist nicht für hochempfindliche CRP-Messungen bestimmt.

2. Zusammenfassung und Erläuterung der Tests

Das Piccolo® AmLyte 13 und das Piccolo Xpress® Analysesystem für klinische Chemie stellen ein diagnostisches *in-vitro*-System dar, das den Arzt bei der Diagnose folgender Erkrankungen unterstützt:

Alanin-Aminotransferase (ALT):	Lebererkrankungen, einschließlich virale Hepatitis und Zirrhose
Albumin:	Leber- und Nierenerkrankungen.
Amylase:	Pancreatitis.
Aspartat-Aminotransferase (AST):	Lebererkrankungen einschließlich Hepatitis und Virale Gelbsucht sowie Schock
Kalzium:	Nebenschilddrüse, Knochen- und chronische Nierenerkrankungen; Tetanie.
C-reaktives Protein (CRP):	Infektionen, Gewebeverletzungen und Entzündungserkrankungen
Kreatin-Kinase	Myokardinfarkt, progressive Muskeldystrophie, Dermatomyositis, Rhabdomyolyse auf Grund von Arzneimitteln, Hyperosmolalität, Autoimmunerkrankung, Delirium tremens, Krampfanfälle, Crush-Syndrom, Hypothyroidismus, chirurgische Eingriffe, schwere Anstrengungen, intramuskuläre Injektionen, körperliche Untätigkeit und reduzierte Muskelmasse
Kreatinin:	Nierenerkrankungen und Dialyseüberwachung
Glukose:	Störungen des Kohlenhydratstoffwechsels einschließlich *Diabetes mellitus* bei Erwachsenen und Jugendlichen sowie Hypoglykämie.
Kalium:	Glomeruläre oder tubuläre Nierenerkrankungen, Nebennierenrindeninsuffizienz, diabetische Ketoazidose, übermäßige intravenöse Kaliumtherapie, Sepsis, Panhypopituitarismus, *In-vitro*-Hämolyse, Hyperaldosteronismus, Mangelernährung, Hyperinsulinismus, metabolische Alkalose und gastrointestinale Verluste.
Natrium:	Dehydratation, Diabetes insipidus, Verlust hypotoner Magen-Darm-Flüssigkeiten, Salzvergiftung, selektive Unterdrückung des Durstgefühls, Hautverluste, Verbrennungen, Schweißausbrüche, Hyperaldosteronismus, ZNS-Störungen, Verdünnungshyponatriämie, Verlusthyponatriämie und Wahnhyponatriämie sowie Syndrom der inadäquaten ADH-Sekretion
Gesamtbilirubin:	Lebererkrankungen, einschließlich Hepatitis und Gallenblasenverschluss; Gelbsucht.
Harnstoffstickstoff (BUN):	Nierenerkrankungen und metabolische Erkrankungen

Wie bei allen diagnostischen Testverfahren sind vor der abschließenden Diagnose alle anderen Testverfahren, einschließlich des klinischen Status des Patienten, in Betracht zu ziehen.

3. Verfahrensprinzip

Alanin-Aminotransferase (ALT)
Für die Bestimmung von Alanin-Aminotransferase (ALT) werden drei Methoden eingesetzt. Zwei dieser Methoden, die kolorimetrische Dinitro-phenylhydrazin-Kopplungstechnik[1,2] und der enzymatische Fluoreszenzassay, kommen nur selten zum Einsatz.[3] Eine auf der Arbeit von Wróblewski und LaDue[4] basierende enzymatische Methode ist das gebräuchlichste Verfahren für die Bestimmung der ALT-Konzentrationen in Serum. Eine Abwandlung des Verfahrens von Wróblewski und LaDue wurde als empfohlenes Verfahren der International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) vorgeschlagen.[5]

Die für den Piccolo Analyzer entwickelte Methode ist eine Abwandlung des von der IFCC empfohlenen Verfahrens. Bei dieser Reaktion katalysiert ALT den Transfer einer Aminogruppe von L-Alanin zu α-Ketoglutarat zur Bildung von L-Glutamat und Pyruvat. Lactat-Dehydrogenase katalysiert die Umwandlung von Pyruvat zu Lactat. Gleichzeitig wird NADH wie im folgenden Reaktionsschema dargestellt zu NAD^+ oxidiert.

$$\text{L-Alanin} + \alpha\text{-Ketoglutarat} \xrightarrow{\text{ALT}} \text{L-Glutamat} + \text{Pyruvat}$$

$$\text{Pyruvat} + \text{NADH} + H^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{Lactat} + NAD^+$$

Die Extinktionsänderungsgeschwindigkeit zwischen 340 nm und 405 nm hängt mit der Umwandlung von NADH zu NAD^+ zusammen und ist direkt proportional zur Menge des in der Probe vorhandenen ALT.

Albumin (ALB)
Zu den früher verwendeten Verfahren zur Bestimmung von Albumin gehören Fraktionierungstechniken[6,7,8] sowie der Tryptophangehalt von Globulinen.[9,10] Die Durchführung dieser Verfahren ist umständlich; überdies weisen diese Verfahren eine geringe Spezifizität auf. Als Referenzmethoden kommen zwei immunchemische Verfahren in Betracht, aber diese Verfahren sind teuer und zeitaufwändig.[11] Die zur Bestimmung von Albumin am häufigsten eingesetzten Methoden sind farbstoffbindende Verfahren. Unter den farbstoffbindenden Verfahren wird Bromcresolgrün (BCG) am häufigsten eingesetzt; allerdings neigt es dazu, die Albuminkonzentration zu hoch zu schätzen, besonders am unteren Ende des Normalbereichs.[12] Von den verwendeten Farbstoffen erbringt Bromcresolpurpur (BCP) den spezifischsten Nachweis.[13,14]

Bei Bindung mit Albumin wechselt Bromcresolpurpur (BCP) seine Farbe von gelb zu blau. Mit dem Farbwechsel ändert sich das Extinktionsmaximum.

$$\text{BCP} + \text{Albumin} \xrightarrow[\text{Saurer pH}]{\text{Tenside}} \text{BCP-Albumin-Komplex}$$

Gebundenes Albumin ist proportional zur Konzentration von Albumin in der Probe. Dies ist eine Endpunktreaktion, die als Extinktionsdifferenz zwischen 600 nm und 550 nm gemessen ist.

Amylase (AMY)
Zur Bestimmung der Amylase wurden etwa 200 verschiedene Tests entwickelt. Bei den meisten Verfahren wird eine gepufferte Polysaccharidlösung verwendet, wobei allerdings unterschiedliche Detektionstechniken eingesetzt werden. Den viskometrischen Verfahren fehlt es an Präzision und Genauigheit[15], während turbidimetrische und iodometrische Verfahren schwer zu standardisieren sind.[16,17] Häufig verwendete Verfahren sind saccharogene und chromolytische Methoden. Die „klassische“ Methode der Amylasebestimmung ist ein saccharogenes Verfahren[18], das jedoch schwierig und zeitaufwändig ist.[19] Kürzlich wurden chromolytische Verfahren entwickelt, bei denen als Substrate p-Nitrophenylglykoside eingesetzt werden.[20] Diese Analysen haben eine höhere Spezifizität für Pankreas-Amylase als für Speichel-Amylase und sind leicht zu überwachen.[20]

Bei der Piccolo-Methode reagiert das Substrat 2-Chlor-*p*-nitrophenyl-α-D-maltotriosid (CNPG3) unter Freisetzung von 2-Chlor-*p*-nitrophenol (CNP) mit der α-Amylase in der Patientenprobe. Die Freisetzung on CNP verursacht einen Farbwechsel.

$$\text{CNPG3} \xrightarrow{\alpha\text{-Amylase}} \text{CNP} + \text{D-Maltotriosid}$$

Die Reaktion wird bichromatisch bei 405 nm und 500 nm gemessen. Die aufgrund der Bildung von CNP gemessene Extinktionsänderung ist direkt proportional zur α-Amylasenaktivität in der Probe.

Aspartat-Aminotransferase (AST)
Der Aspartat-Aminotransferase (AST)-Test beruht auf der Karmen-Geschwindigkeitsmethode[21] in der von Bergmeyer abgewandelten Form.[22] Die aktuelle Referenzmethode der International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) verwendet die Karmen/Bergmeyer-Technik des Koppelns von Malatdehydrogenase (MDH) und reduziertem Nicotinamiddinucleotid (NADH) zum Nachweis von AST im Serum.[22,23] Lactatdehydrogenase (LDH) wird der Reaktion zugegeben, um die durch endogenes Pyruvat verursachten Interferenten zu verringern.

AST katalysiert die Umsetzung von L-Aspartat und einem α-Ketoglutarat in Oxaloacetat und L-Glutamat. Oxalacetat wird in Malat umgewandelt, und NADH wird durch den Katalysator MDH zu NAD^+ oxidiert.

$$\text{L-Aspartat} + \alpha\text{-Ketoglutarat} \xrightarrow{\text{AST}} \text{Oxalacetat} + \text{L-Glutamat}$$

$$\text{Oxalacetat} + \text{NADH} \xrightarrow{\text{MDH}} \text{Malat} + \text{NAD}^+$$

Die durch die Umwandlung von NADH in NAD^+ bewirkte Extinktionsänderungsgeschwindigkeit bei 340 nm/405 nm ist direkt proportional zur in der Probe vorhandenen AST-Menge.

Kalzium (CA)
Bei den ersten Verfahren, die zur Analyse von Kalzium zum Einsatz kamen, wurde Kalzium mit einem Überschuss von Anionen ausgefällt.[24,25,26] Ausfällungsverfahren sind jedoch aufwändig und häufig ungenau. Als Referenzmethode für Kalzium kommt die Atomabsorptionsspektrometrie in Frage; allerdings ist diese Methode nicht zur routinemäßigen Anwendung geeignet.[27] Am häufigsten werden spektrophotometrische Verfahren unter Anwendung von *o*-Cresolphthalein-Complexon oder Arsenazo III-Metallochromindikatoren eingesetzt.[28,29,30] Arsenazo III hat eine hohe Affinität für Kalzium und ist im Gegensatz zu CPC nicht temperaturabhängig.

Das Kalzium in der Patientenprobe verbindet sich mit Arsenazo III unter Bildung eines Kalzium-Farbstoff-Komplexes.

$$Ca^{2+} + \text{Arsenazo III} \longrightarrow Ca^{2+}\text{-Arsenazo III-Komplex}$$

Die Endpunktreaktion wird bei 405 nm, 467 nm und 600 nm überwacht. Der Gehalt an Gesamtcalsium in der Probe ist proportional zur Extinktion.

C-reaktives Protein (CRP)
Die Original-Assays zur Quantifizierung von CRP dienten in erster Linie der Forschung und basierten auf der ELISA-Methode.[31] Seit kurzem werden immunonephelometrische Methoden mittels Latexagglutinierung verwendet.[32] Dafür wird jedoch ein Nephelometer zur Messung der Lichtstreuung benötigt. Mittlerweile wurden verschiedene automatisierte immunoturbidimetrische und immunoluminometrische Assays entwickelt, die in konventionellen Analysesystemen für klinische Chemie verwendet werden können.[33]

Bei der von Abaxis verwendeten Methode handelt es sich um einen turbidimetrischen Immunoassay mittels Latexagglutinierung. Eine Probe wird mit einer Suspension aus monoklonalem CRP-Antikörper aus Maus-Anti-Human gemischt, der an Latex agglutiniert. Das CRP in der Probe wird an die Antikörper-Latex-Partikel gebunden und agglutiniert, wobei sich die Lösung trübt. Die Lichtstreuung aus der Trübung wird zur Messung des CRP verwendet. Die Trübheit wird als Extinktionsänderung bei 630 nm gemessen. Diese Extinktionsänderung verhält sich direkt proportional zum CRP in der Probe.

$$\text{Anti-CRP-Latexpartikel} + \text{CRP} \longrightarrow \text{Agglutinierte CRP-Anti-CRP-Latexpartikel}$$

Kreatin-Kinase (CK)
Kreatin-Kinase katalysiert die reversible Phosphorylierung von Kreatin durch Adenosin-triphosphat (ATP). Die Phosphorylierungsreaktion wird durch alkalische Bedingungen (optimaler ph-Wert: 9,0) begünstigt, die Dephosphorylierungsreaktion durch saure Bedingungen (optimaler pH-Wert: 6,5 bei 37 ºC). Frühe Methoden zur CK-Bestimmung beruhten auf der „Hinreaktion", bei der sich die Produkte Kreatinphosphat und Adenosindiphosphat (ADP) ergaben.[34,35,36] Die Empfindlichkeit dieser Tests erwies sich auf Grund von Problemen mit Störfaktoren als niedrig. Das Verfahren der Wahl nutzt die „Umkehrreaktion" in Verbindung mit einer NADPH produzierenden Reaktion, die in direktem Bezug zu den CK-Konzentrationen steht.[37,38.39]

Das von Abaxis angewandte Verfahren zur CK-Bestimmung ist eine Abwandlung der Methode der International Federation of Clinical Chemistry (IFCC).[40] Wichtige Änderungen stellen Probenvolumenfraktion, Puffer und Temperatur dar. Zur Reaktivierung der CK wurde N-Acetylcystein (NAC) zugesetzt.[41] Magnesium dient als Co-Faktor für sowohl CK als auch Hexokinase. EDTA wurde als Stabilisator für NAC und zum Entfernen verschiedener CK-hemmender Kationen (wie bspw. Kalzium und Eisen) zugesetzt. Außerdem wurden P^1,P^5-Di-(adenosin-5')-pentaphosphat und Adenosin-monophosphat (AMP) zugesetzt, um Adenylat-Kinase zu hemmen, ein weiteres Skelettmuskulatur- und Erythrozyten-Enzym, das mit den zur CK-Bestimmung eingesetzten Substraten reagiert.

Kreatin-Kinase katalysiert die Bildung von Kreatin und ATP aus Kreatinphosphat und ADP bei einem pH-Wert von 6,7. Mit Hexokinase als Katalysator reagiert ATP mit D-Glukose unter Bildung von ADP und D-Glukose-6-phosphat (G-6-P), das bei Vorliegen von Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase (G-6-PDH) mit Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (NADP) unter Bildung von G-6-P und NADPH reagiert.

$$\text{Kreatinphosphat} + \text{ADP} \xrightarrow[Mg^{2+}]{\text{CK}} \text{Kreatin} + \text{ATP}$$

$$\text{ATP} + \text{D-Glukose} \xrightarrow{\text{Hexokinase}} \text{ADP} + \text{G-6-P}$$

$$\text{G-6-P} + \text{NADP} \xrightarrow{\text{G-6-PDH}} \text{6-Phosphogluconat} + \text{NADPH} + H^+$$

Die Bildung von NADPH wird als Extinktionsänderung bei 340 nm im Verhältnis zu 405 nm bestimmt. Diese Extinktionsänderung verhält sich direkt proportional zur Kreatin-Kinase-Aktivität in der Probe.

Kreatinin (CRE)

Die 1886 eingeführte Jaffe-Methode wird noch immer weithin zur Bestimmung der Kreatinin-Spiegel im Blut eingesetzt. Die heutige Referenzmethode kombiniert den Einsatz von Fullererde (Floridin) mit der Jaffe-Technik, um eine Verbesserung der Reaktionsspezifität zu bewirken.[42,43] Es wurden enzymatische Methoden entwickelt, die eine bessere Kreatinin-Spezifität aufwiesen, als die verschiedenen Abwandlungen der Jaffe-Technik.[44,45,46] Methoden mit dem Enzym Kreatinin-Amidohydrolase eliminieren das Problem der Störungen durch Ammoniumionen, welches bei Verfahren mit Kreatinin-Iminohydrolase auftritt.[47]

$$\text{Kreatinin} + H_2O \xrightarrow{\text{Kreatinin-Amidohydrolase}} \text{Kreatin}$$

$$\text{Kreatin} + H_2O \xrightarrow{\text{Kreatin-Amidinohydrolase}} \text{Sarcosin} + \text{Harnstoff}$$

$$\text{Sarcosin} + H_2O + O_2 \xrightarrow{\text{Sarcosin-Oxidase}} \text{Glycin} + \text{Formaldehyd} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{TBHBA} + \text{4-AAP} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \text{Roter Chinonimin-Farbstoff} + H_2O$$

Die Kreatinin-Konzentration in der Probe wird mit zwei Küvetten bestimmt. Das endogene Kreatin wird in der Blindwertküvette gemessen und von der Gesamtsumme aus endogenem Kreatin und durch Enzymreaktionen in der Testküvette gebildetem Kreatin subtrahiert. Wenn das endogene Kreatin aus den Berechnungen entfernt ist, ist die Kreatinin-Konzentration proportional zur Intensität der produzierten roten Farbe. Die Endpunktreaktion wird als die Extinktionsdifferenz zwischen 550 nm und 600 nm gemessen.

eGFR (Errechnet)

Serumcreatinin wird routinemäßig als Indikator für die Nierenfunktion gemessen. Da der Kreatinspiegel von Alter, Geschlecht und Rasse abhängt, lassen sich chronische Nierenerkrankungen (CKD) nicht ausschließlich durch die Messung des Serumcreatins diagnostizieren. Daher empfiehlt das National Kidney Disease Education Program ausdrücklich die routinemäßige Bestimmung der geschätzten glomerulären Filtrationsrate (eGFR) bei Messungen des Serumcreatins bei Patienten über 18 Jahren. Eine routinemäßige Bestimmung der eGFR bei jeder Messung des Serumcreatinins ermöglicht die Feststellung von Nierenfunktionsstörungen und erleichtert die Diagnose einer CNKn. eGFR-Werte unter 60 mL/min weisen in der Regel auf ein erhöhtes Risiko für einen ungünstigen Verlauf einer CKD hin.

Die Berechnung des eGFR-Werts erfolgt durch Piccolo unter Berücksichtigung von Alter, Geschlecht und Rasse der jeweiligen Patienten. Das Piccolo-Verfahren für Kreatinin lässt sich auf die IDMS-Referenzmethode für Kreatinin zurückführen, so dass die folgende Formel der MDRD-Gleichung für die Berechnung des eGFR-Werts verwendet werden kann.

$\text{GFR (mL/min/1,73 m}^2) = 175 \text{ x } (S_{cr})^{-1,154} \text{ x } (\text{Alter})^{-0,203} \text{ x (0,742 bei Frauen) x (1,212 bei Afroamerikanern)}$

Glukose (GLU)

Messungen der Glukose-Konzentration wurden zuerst mit Kupferreduktionstechniken (wie Folin-Wu[48] und Somogyi-Nelson[49,50]) vorgenommen. Die mangelnde Spezifität der Kupferreduktionstechniken führte zur Entwicklung quantitativer Verfahren unter Verwendung der Enzyme Hexokinase und Glukose-Oxidase. Der im AmLyte 13 integrierte Glukosetest ist eine abgewandelte Version der Hexokinasemethode, die als Basis für die Glukose-Referenzmethode vorgeschlagen wurde.[51]

Die durch Hexokinase (HK) katalysierte Umsetzung von Glukose mit Adenosintriphosphat (ATP) erzeugt Glukose-6-Phosphat (G-6-P) und Adenosindiphosphat (ADP). Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G-6-PDH) katalysiert die Umsetzung von G-6-P zu 6-Phosphogluconat und die Reduktion von Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (NAD^+) zu NADH.

$$\text{Glukose} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Hexokinase}} \text{G-6-P} + \text{ADP}$$

$$\text{G-6-P} + \text{NAD}^+ \xrightarrow{\text{G-6-PDH}} \text{6-Phosphogluconat} + \text{NADH} + \text{H}^+$$

Kalium (K+)

Es wurden spektralphotometrische Methoden entwickelt, die die Messung der Kaliumkonzentration mit Standardgeräten der klinischen Chemie ermöglichen. Die enzymatische Methode von Abaxis beruht auf der Aktivierung von Pyruvatkinase mit Kalium und zeigt eine hervorragende Linearität und vernachlässigbare Anfälligkeit gegen endogene Substanzen.[52,53,54] Interferenzen von Natrium und Ammoniumionen werden durch Zusatz von Kryptofix bzw. Glutaminsynthetase minimiert.[52]

In der Reaktion mit gekoppelten Enzymen wird Phosphoenolpyruvat (PEP) von Pyruvatkinase (PK) zu Pyruvat dephosphoryliert. Lactatdehydrogenase (LDH) katalysiert die Umwandlung von Pyruvat in Lactat. Damit einhergehend wird NADH zu NAD^+ oxidiert. Die Änderungsgeschwindigkeit der Extinktionsdifferenz zwischen 340 nm und 405 nm hängt mit der Umwandlung von NADH zu NAD^+ zusammen und ist direkt proportional zur Menge des in der Probe vorhandenen Kaliums.

$$\text{ADP} + \text{PEP} \xrightarrow{K^+,\ \text{PK}} \text{Pyruvat} + \text{ATP}$$

$$\text{Pyruvat} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{LDH}} \text{Lactat} + \text{NAD}^+$$

Natrium (Na^+)

Kolorimetrische und enzymatische Methoden erlauben die Bestimmung der Natriumkonzentration mit Standardgeräten der klinischen Chemie.[55,56,57] Bei der enzymatischen Reaktion von Abaxis wird β-Galactosidase durch Natrium in der Probe aktiviert. Das aktivierte Enzym katalysiert die Umsetzung von o-Nitrophenyl-β-D-galactopyranosid (ONPG) zu o-Nitrophenol und Galactose.

$$\text{ONPG} \xrightarrow[\beta\text{-Galactosidase}]{\text{Na+}} \text{o-Nitrophenol} + \text{Galactose}$$

Gesamtbilirubin (TBIL)

Zur Bestimmung der Gesamtbilirubingehalte werden in der Regel Tests eingesetzt, die diazotierte Sulfanilsäure verwenden.[58,59] Eine kürzlich entwickelte neuerere, spezifischere Methode verwendet das Enzym Bilirubinoxidase.[60,61,62] Zusätzlich zum Vorteil einer spezifischeren Gesamtbilirubin-Testmethode minimieren die Piccolo-Analysatorsysteme auch den photochemischen Abbau des Analyten, da die Probe unmittelbar nach Entnahme getestet werden kann,

Im Verlauf der enzymatischen Reaktion wird Bilirubin durch Bilirubinoxidase zu Biliverdin oxidiert.

$$\text{Bilirubin} + O_2^- \xrightarrow{\text{Bilirubinoxidase}} \text{Biliverdin} + H_2O$$

Bilirubin wird quantitativ als Extinktionsdifferenz zwischen 467 nm und 550 nm bestimmt. Die Anfangsextinktion dieser Endpunktreaktion wird in der Bilirubin-Blindküvette durchgeführt, und die Endextinktion wird aus der Bilirubin-Testküvette erhalten. Der Gehalt an Bilirubin in der Probe is proportional zur Differenz zwischen den Messungen der Anfangs- und Endextinktion.

Harnstoffstickstoff (BUN)

Harnstoff kann sowohl direkt als auch indirekt gemessen werden. Die Diacetylmonoximreaktion, die einzige direkte Methode zur Messung von Harnstoff, wird häufig angewendet, involviert jedoch gefährliche Reagenzien.[63] Indirekte Methoden messen den vom Harnstoff gebildeten Ammoniak; der Einsatz des Enzyms Urease hat die Spezifität dieser Tests erhöht.[64] Der Ammoniak wird auf verschiedene Weise quantitativ bestimmt, darunter Stickstoffbestimmung nach Neßler (Säuretitration), die Berthelot-Methode[65,66] und Reaktionen mit gekoppelten Enzymen.[67.68] Katalysierte Berthelot-Verfahren sind beim Messen von Ammoniak jedoch fehlerhaft.[69] Reaktionen mit gekoppelten Enzymen sind schnell, haben eine hohe Spezifität für Ammoniak und sind allgemein in Gebrauch. Eine solche Umsetzung wurde als Kandidat für eine Referenzmethode vorgeschlagen.[70]

Bei der Reaktion mit gekoppelten Enzymen hydrolysiert Urease den Harnstoff zu Ammoniak und Kohlendioxid. Wenn der Ammoniak mit α-Ketoglutarat und reduziertem Nicotinamidadenindinucleotid (NADH) kombiniert wird, oxidiert das Enzym Glutamatdehydrogenase (GLDH) NADH zu NAD^+.

$$\text{Harnstoff} + H_2O \xrightarrow{\text{Urease}} 2NH_3 + CO_2$$

$$NH_3 + \text{á-Ketoglutarat} + NADH \xrightarrow{\text{GLDH}} \text{L-Glutamat} + H_2O + NAD^+$$

Die Änderungsgeschwindigkeit der Extinktionsdifferenz zwischen 340 nm und 405 nm hängt mit der Umwandlung von NADH zu NAD^+ zusammen und ist direkt proportional zur Menge des in der Probe vorhandenen Harnstoffs.

4. Funktionsprinzip

Grundsätze und Grenzen des Verfahrens sind im Benutzerhandbuch für das Piccolo Xpress® Analysegerät für klinische Chemie aufgeführt.

5. Beschreibung der Reagenzien

Reagenzien
Jedes Piccolo® AmLyte 13 umfasst trockene, testspezifische Reagenzien-Beads (Beschreibung folgt). Jede Disk enthält ein trockenes Blindprobenreagenz (bestehend aus Puffer, Tensiden, Hilfsstoffen und Konservierungsmitteln) für die Berechnung der Konzentrationen an Alanin-Aminotransferase (ALT), Albumin (ALB), Amylase (AMY), Aspartat-Aminotransferase (AST), Kalzium (CA), C-reaktivem Protein (CRP), Kreatin-Kinase (CK) Glukose (GLU), Kalium (K+), Natrium (Na+) und Harnstoff-Stickstoff (BUN). Zur Berechnung der Kreatininkonzentrationen (CRE) und des Gesamtbilirubins (TBIL) enthält die Disk einen spezifischen Probenblindwert. Jede Disk enthält außerdem ein aus Tensiden und Konservierungsmitteln bestehendes Verdünnungsmittel.

Tabelle 1: Reagenzien

Komponente	Menge/Disk
2, 4, 6-Tribrom-3-Hydroxybenzoesäure (TBHBA)	188 µg
2-Chloro-4-Nitrophenyl-α-D-Maltotriosid (CNPG3)	52,5 µg
4,7,13,16,21-Pentaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.5]tricosan (Kryptofix 221)	84 µg
4-Aminoantipyrinhydrochlorid	13 µg
Adenosin-5'-diphosphat	38 µg
Adenosin-5'-monophosphat	33 µg
Adenosin-5'-triphosphat	11 µg
Amylase	0,0357 E
Latexbeschichtetes Anti-Human-CRP (Maus)	268,8 µg
Anti-Human-CRP (Ziege)	0,5 µg
Ascorbatoxidase (*Cucurbita spp.*)	0,3 E
Kalziumazetat	25,2 µg
Zitronensäure, Trinatriumsalz	567 µg
Kreatinamidinohydrolase (*Actinobacillus spp*.)	3 E
Kreatinphosphat	122 µg
Kreatininamidohydrolase (*Pseudomonas spp.)*	1 E
Ethylenglycol-bis(ß-aminoethylether)-N,N,N',N'-tetraessigsäure (EGTA)	4 µg
Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)	191,1 µg
Glukose	58 µg
Glukose-6-Phosphatdehydrogenase (G6PDH) (Hefe)	0,1 E

Tabelle 1: Reagenzien (Fortsetzung)

Komponente	Menge/Disk
Glutamatdehydrogenase	0,1 E
Glutaminsynthetase	0,2 E
Hexokinase (Hefe)	0,2 E
Imidazol	26 µg
Lactatdehydrogenase (Hühnerherz)	0,3 E
Magnesiumacetat	60 µg
Magnesiumsulfat	29 µg
Malat-Dehydrogenase (Schweineherz)	0,1 E
N-Acetylcystein	60 µg
o-Nitrophenyl-ß-D-galactopyranosid (ONPG)	22 µg
P1, P5di(adenosin-5')pentaphosphat	0,2 µg
Peroxidase (Meerrettich)	1 E
Phosphoenolpyruvat	23 µg
Phosphoenolpyruvatcarboxylase	0,001 E
Kaliumferrocyanid	0,4 µg
Pyruvatkinase	0,01 E
Sarcosinoxidase (Mikroorganismus)	1 E
Natriumcholat	58 µg
Natriumlaurylsulfat	145 µg
Sulfhydryl-blockiertes Rinderserumalbumin	420 µg
ß-Nicotinamidadenindinucleotid (NAD)	20 µg
ß-Nicotinamidadenindinucleotid, reduziert (NADH)	28 µg
ß-Nicotinamidadenindinucleotidphosphat (NADP)	101 µg
Urease (Jack Bean)	0,05 E
α -Ketoglutarsäure	19 µg
α -Galactosidase	0,005 E
Puffer, Tenside, Hilfsstoffe und Konservierungsmittel	

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Für die *In-vitro*-Diagnostik
- Der Verdünnungsmittelbehälter in der Reagenzdisk wird beim Schließen des Schubfachs des Analysegeräts automatisch geöffnet. Eine Disk mit einem geöffneten Verdünnungsmittelbehälter kann nicht wieder verwendet werden. Vor dem Schließen des Schubfachs prüfen, ob die Probe bzw. Kontrolle in die Disk appliziert wurde.
- Gebrauchte Reagenzdisks enthalten menschliche Körperflüssigkeiten. Bei der Handhabung und Entsorgung von gebrauchten Disks die Arbeitsschutzbestimmungen der guten Laborpraxis einhalten.[39] Anweisungen zum Aufnehmen von verschütteten biologischen Gefahrenstoffen enthält das Benutzerhandbuch für das Piccolo Xpress® Analysesystem für klinische Chemie.
- Die Reagenzdisks bestehen aus Kunststoff und können bei Aufschlag auf dem Boden Risse erhalten oder splittern. **Niemals** heruntergefallene Disks verwenden, da diese biologische Gefahrenstoffe im Innern des Analysegeräts versprühen können.
- Reagenzien-Beads können Säuren oder Basen enthalten. Bei Einhaltung der empfohlenen Verfahrensweisen kommt der Bediener nicht mit den Reagenzien-Beads in Berührung. Wenn Sie mit Beads umgehen müssen (z. B. beim Reinigen nach dem Fallenlassen und Zerbrechen einer Reagenzdisk), vermeiden Sie ein Verschlucken, Einatmen der Reagenzien-Beads sowie Hautkontakt mit ihnen.

Anweisungen zum Umgang mit Reagenzien

Reagenzdisks sind ohne Erwärmen sofort aus dem Kühlschrank heraus benutzbar. Lassen Sie die in Folienbeutel eingeschweißten Scheiben nicht länger als 48 Stunden vor Gebrauch bei Raumtemperatur liegen. Den versiegelten Folienbeutel öffnen, die Disk entnehmen und gemäß den Anweisungen des Benutzerhandbuchs für das Piccolo Xpress® Analysesystem für klinische Chemie verwenden. Eine nicht innerhalb von 20 Minuten nach Öffnen des Beutels verwendete Disk muss entsorgt werden.

Lagerung
Die in ihre Folienbeutel eingeschweißten Reagenzdisks bei 2-8 °C (36-46 °F) lagern. Geöffnete oder ungeöffnete Disks keiner direkten Sonneneinstrahlung oder Temperaturen von über 32 °C (90 °F) aussetzen. Reagenzdisks können bis zu dem auf der Packung angegebenen Verfallsdatum verwendet werden. Das Verfallsdatum ist auch auf dem Barcode-Ring enthalten. Bei Überschreitung des Verfallsdatums der Reagenzien erscheint auf der Anzeige des Piccolo Xpress® Analysesystems für klinische Chemie eine Fehlermeldung.

Anzeichen für instabile oder beschädigte Reagenzdisks
Bei einem aufgerissenen oder anderweitig beschädigten Folienbeutel kann Feuchtigkeit zur unbenutzten Disk vordringen und die Leistung der Reagenzien negativ beeinflussen. Verwenden Sie keine Scheiben aus einem beschädigten Beutel.

6. Gerät

Vollständige Angaben zum Gebrauch des Analysesystems enthält das Benutzerhandbuch für das Piccolo Xpress® Analysesystem für klinische Chemie.

7. Probennahme und -vorbereitung

Probennahmeverfahren sind im Probennahme-Abschnitt des Benutzerhandbuchs für das Piccolo Xpress® Analysesystem für klinische Chemie beschrieben.

- Die erforderliche Mindestprobenmenge ist ~100 µL Lithium-heparinisiertes Vollblut, Lithium-heparinisiertes Plasma, Serum oder Kontrollmaterial. Die Probenkammer der Reagenzdisk kann eine Probenmenge von bis zu 120 µL aufnehmen.

- Durch Venenpunktion erhaltene Vollblutproben müssen homogen sein, bevor sie auf die Reagenzdisk transferiert werden. Das Sammelröhrchen unmittelbar vor dem Probentransfer mehrere Male vorsichtig umdrehen. Das Sammelröhrchen nicht schütteln, da es sonst zur Hämolyse kommen kann.

- Vollblutproben sollten nur durch Venenpunktion entnommen werden, nicht durch Kapillarblut.

- Hämolyse kann bei **Kalium**-Assays zu fälschlicherweise erhöhten Ergebnissen führen. Bei der Analyse von Vollblutproben wird dieses Problem möglicherweise nicht erkannt (die Freisetzung von Kalium aus lediglich 0,5 % der Erythrozyten kann zur Erhöhung des Kalium-Serumspiegels um 0,5 mmol/L führen). Außerdem können selbst nicht hämolysierte Proben, die nicht unverzüglich bearbeitet werden, auf Grund von intrazellulärem Kaliumauslauf erhöhte Kaliumkonzentrationen aufweisen.[71]

- Durch Venenpunktion erhaltene Vollblutproben sind innerhalb von 60 Minuten nach der Entnahme zu analysieren.[72] Die **Glukose**-Spiegel werden durch die Zeitdauer seit der letzten Nahrungsaufnahme des Patienten sowie auch durch den entnommenen Probentyp beeinflusst. Zur genauen Bestimmung der Glukoseergebnisse sind die Proben von einem Patienten zu nehmen, der mindestens 12 Stunden keine Nahrung zu sich genommen hat. Die Glukosekonzentration von nicht zentrifugierten, bei Raumtemperatur gelagerten Proben sinkt innerhalb von 1 Stunde um etwa 5–12 mg/dL.[73]

- Das Kühlen von Vollblutproben kann die Konzentration von **Aspartat-Aminotransferase**, **Kreatinin** und **Glukose** stark verändern.[74] Die Probe kann in Plasma oder Serum aufgetrennt und in mit Kappen versehenen Röhrchen bei 2-8 °C (36-46 °F) gelagert werden, wenn sie nicht binnen 60 Minuten bearbeitet werden kann.

- Für Vollblut- oder Plasmaproben nur evakuierte Probensammelröhrchen mit Lithiumheparin (grüner Stopfen) verwenden. Für Serumproben nur evakuierte Probensammelröhrchen ohne Zusatz roter Stopfen) oder Serumtrennröhrchen (rot/schwarzer Stopfen) verwenden.

- **Gesamtbilirubin**-Ergebnisse können durch den photochemischen Abbau negativ beeinflusst werden.[75] Vollblutproben, die nicht sofort analysiert werden, dürfen für maximal 60 Minuten dunkel gelagert werden. Kann die Probe nicht innerhalb dieses Zeitraums analysiert werden, sollte sie in Plasma oder Serum getrennt und in einem geschlossenen Probenröhrchen dunkel und bei niedrigen Temperaturen aufbewahrt werden.[76]

- Die Analyse innerhalb von 10 Minuten nach Übertragung der Probe in die Reagenzdisk beginnen.

8. Verfahren

Lieferumfang
- Ein Piccolo® AmLyte 13 mit der Teil-Nr. 400-1041 (ein Karton mit Disks Art.-Nr.: 400-0041)

Benötigte Materialien, die nicht zum Lieferumfang gehören

- Piccolo Xpress® Analysesystem für klinische Chemie
- Probentransferpipetten (Fixvolumen ca. 100 µL) und Spitzen werden mit jedem Piccolo Xpress® Analysesystem für klinische Chemie geliefert und können bei Abaxis nachbestellt werden.
- Von Abaxis empfohlene, im Handel erhältliche Kontrollreagenzien (zugelassene Kontrollmaterialien und Erwartungswerte erfragen Sie bitte beim technischen Kundendienst von Abaxis)
- Zeitgeber

Testparameter

Für den Betrieb des Piccolo Xpress® Analysesystems für klinische Chemie sind Umgebungstemperaturen zwischen 15 und 32 °C (59 und 90 °F) erforderlich. Die Analysedauer für ein Piccolo® AmLyte 13 beträgt weniger als 14 Minuten. Das Analysegerät hält die Reagenzdisk während des Messintervalls auf einer Temperatur von 37 °C (98,6 °F).

Testverfahren

Das komplette Probennahmeverfahren sowie schrittweise Bedienungsanweisungen sind im Benutzerhandbuch für das Piccolo Xpress® Analysesystem für klinische Chemie ausführlich beschrieben.

Kalibration

Das Piccolo Xpress® Analysesystem für klinische Chemie wird vor dem Versand vom Hersteller kalibriert. Der auf dem Barcodering aufgedruckte Barcode enthält die spezifischen Kalibrierdaten für das Analysegerät. Siehe Benutzerhandbuch zum Piccolo Xpress® Analysesystem für klinische Chemie.

Qualitätskontrolle

Ausführliche Erläuterungen zur Analyse, Aufzeichnung, Interpretation und grafischen Darstellung von Kontrollergebnissen enthält das Benutzerhandbuch für das Piccolo Xpress® Analysesystem für klinische Chemie.

9. Ergebnisse

Das Piccolo Xpress® Analysesystem für klinische Chemie berechnet und druckt die Analytkonzentrationen der Probe automatisch aus. Einzelheiten zu den Berechnungen für die Endpunkt- und kinetischen Reaktionen sind im Benutzerhandbuch für das Piccolo Xpress® Analysesystem für klinische Chemie enthalten.

Die Interpretation der Ergebnisse ist im Benutzerhandbuch eingehend dargestellt. Die Ergebnisse werden auf von Abaxis geliefertenProtokoll-Rollstreifen gedruckt. Die Protokoll-Rollstreifenhaben rückseitig eine Klebeschicht zur einfachen Anbringung in der Patientenakte.

10. Verfahrensgrenzen

Die allgemeinen Verfahrensgrenzen werden im Benutzerhandbuch für das Piccolo Xpress® Analysesystem für klinische Chemie behandelt.

- Das einzige **zur Verwendung** mit dem Piccolo Xpress® Analysesystem für klinische Chemie **empfohlene** Antikoagulans ist **Lithiumheparin**. Abaxis hat in Studien demonstriert, dass EDTA, Fluorid, Oxalat und Ammoniumionen enthaltende Antikoaguliermittel zu Interferenzen mit mindestens einer im Piccolo® AmLyte 13 enthaltenen Chemikalie führen.

- Proben, deren Hämatokrit ein Erythrozytenkonzentratvolumen von 62-65% umfasst (eine Volumenfraktion von 0,62-0,65), können ungenaue Ergebnisse erbringen. Solche Proben mit hohen Hämatokritwerten können als hämolysiert berichtet werden. Diese Proben können dann zum Erhalt von Plasma zentrifugiert und in einer neuen Reagenziendisk erneut getestet werden.

- CRP ist ein „Akute-Phase“-Protein, das nicht-spezifisch als Reaktion auf Entzündungen ansteigt. Die intraindividuellen Variationen des c-reaktiven Proteins sind signifikant (30 bis 60 %) und sollten bei der Interpretation von Werten berücksichtigt werden.[77] Möglicherweise sind Serienmessungen erforderlich, um den echten Mittelwert des c-reaktiven Proteins in einer bestimmten Einzelprobe zu schätzen.

- HAMA (humane Anti-Maus-Antikörper) bis 115 ng/mL haben keinen Einfluss auf die Berechnung. Proben von Patienten, die Präparate aus monoklonalen Maus-Antikörpern zur Diagnose oder Behandlung enthalten haben, können HAMA enthalten.

- Rheumafaktoren bis zu einer Konzentraion von 644 U/mL haben keinen Einfluss auf die Berechnung.

- In diesem Assay wurde bei CRP-Konzentrationen bis 1.000 mg/L kein High-Dose-Hook-Effect (Prozonenphänomen) beobachtet.

- **Alle den Assaybereich überschreitenden Analyseergebnisse sollten mit einem anderen zugelassenen Testverfahren analysiert oder an ein Referenzlabor geschickt werden. Die Probe nicht verdünnen und erneut im Piccolo Xpress® Analysesystem für klinische Chemie testen.**

  Achtung: Umfassende Prüfungen des Piccolo Xpress® Analysesystems für klinische Chemie haben ergeben, dass in sehr seltenen Fällen eine in die Reagenzdisk gegebene Probe nicht problemlos in die Probenkammer gelangt. Infolge irregulären Flusses kann eine unzureichende Probenmenge analysiert werden, und mehrere Ergebnisse können außerhalb des Referenzbereichs fallen. Die Probe kann mit einer neuen Reagenzdisk nochmals getestet werden.

Störsubstanzen

Es wurden Substanzen als mögliche Störsubstanzen mit den Analyten getestet. Humanserum-Pools wurden hergestellt. Die Konzentration, bei der die potenziellen Interferenten getestet wurden, basiert auf den Testkonzentrationen nach CLSI EP7-A.[78]

Auswirkungen endogener Substanzen

- Physiologische Störsubstanzen (Hämolyse, Ikterus und Lipämie) verursachen Veränderungen in den ausgegebenen Konzentrationen mancher Analyten. Die Probenindices werden unten auf jedem Ausdruck angegeben, damit der Bediener weiß, in welcher Konzentration die Störsubstanzen in den einzelnen Proben auftreten.

- Das Piccolo Xpress® Analysesystem für klinische Chemie unterdrückt alle Ergebnisse, die auf Grund von Hämolyse, Lipämie oder Ikterus Störungen von mehr als 10 % aufweisen. In solchen Fällen wird auf dem Ausdruck an Stelle des Ergebnisses „HEM" (Hämolyse), „LIP" (Lipämie) oder „ICT" (Ikterus) ausgegeben.

- Beim CRP-Verfahren betragen die Konzentrationen endogener Substanzen, die eine Unterdrückung der Ergebnisse für HEM-, LIP- oder ICT-Unterdrückungen, jeweils 750 mg/dL für Hämoglobin, 750 mg/dL für Lipämie und 35 mg/dL für Bilirubin.

- Der Kalium-Assay im Piccolo-System ist ein gekoppelter Pyruvatkinase- (PK) / Laktatdehydrogenase- (LDH) Assay. Bei extremem Muskeltrauma oder stark erhöhten Kreatin-Kinase-Werten (CK) kann das Piccolo-System daher fälschlich erhöhte Kaliumwerte (K+) messen. In diesen Fällen sind unerwartet hohe Kaliumwerte mit einer anderen Methode zu bestätigen.

- Angaben zu den maximalen Konzentrationen endogener Substanzen erhalten Sie beim technischen Kundendienst von Abaxis.

Auswirkungen von exogenen und therapeutischen Substanzen

Fünfunddreißig exogene und therapeutische Substanzen wurden als potenzielle Interferenten für Abaxis-Testverfahren auf Grund der Empfehlungen von Young ausgewählt.[79] Eine signifikante Interferenz ist als eine Verschiebung des Ergebnisses um mehr als ± 10 % für eine Probe im Normalbereich definiert. Humanserum-Pools wurden mit bekannten Konzentrationen von Arzneimitteln oder Chemikalien ergänzt und dann analysiert. In Tabelle 2 ist eine Liste der bewerteten exogenen und therapeutischen Substanzen aufgeführt. **In TABELLE 3 finden Sie eine Liste der Analyte, bei denen Interferenzen beobachtet wurden.**

Tabelle 2: Bewertete exogene und therapeutische Substanzen

Potenzieller Interferent	Höchste geprüfte Konzentration (mg/dL, soweit nicht anders angegeben)
Acetaminophen	100
Acetoacetat	102
Acetylsalicylsäure	50
Ampicillin	30
Ascorbinsäure	3
Koffein	10
Cephalothin (Keflin)	400
Chloramphenicol	100
Cimetidin	16
Dopamin	13
Epinephrin	1
Erythromycin	10
Glutathion	30
Hydrochlorothiazid	7,5
Ibuprofen	50
Isoniazid	4

Tabelle 2: Bewertete exogene und therapeutische Substanzen (Fortsetzung)

Potenzieller Interferent	Höchste geprüfte Konzentration (mg/dL, soweit nicht anders angegeben)
Ketoprofen	50
L-dopa	5
Lidocain	1
Lithiumlactat	84
Methicillin	100
Methotrexat	0,5
Metronidazol	5
Nafcillin	1
Nitrofurantoin	20
Oxacillin	1
Oxalacetat	132
Penicillin G	100
Phenytoin (5,5-Diphenylhydantion)	3
Prolin	4
Rifampin	0,5
Salicylsäure	50
Sulfadiazin	150
Sulfanilamid	50
Theophyllin	20

Tabelle 3: Folgende Substanzen zeigten eine Ergebnisverschiebung von mehr als ± 10 % bei einer Probe im Normalbereich.

	Konzentration, bei der > 10 % Störsubstanzen	Beobachtete Interferenz (%)[A]
Alanin-Aminotransferase (ALT)		
Ascorbinsäure	20	11 % erh*
Oxalacetat	132	843 % erh
Albumin (ALB)		
Acetoacetat	102	18% * verm
Ampicillin	30	12% verm
Koffein	10	14% verm
Kalziumchlorid	20	17% verm
Cephalothin (Keflin)	400	13% erh
Ibuprofen	50	28% erh
-Ketoglutarat	5	11% verm
Nitrofurantoin	20	13% verm
Proline	4	12% erh
Sulfalazin	10	14% verm
Sulfanilamid	50	12% verm
Theophyllin	20	11% verm
C-reaktives Protein		
Glutathion	30	13% verm
Isoniazid	4	16% verm
L-Dopa	5	28% verm
Oxalacetat	132	57% verm
Kreatin-Kinase		
Cephalothin	400	43% verm
Dopamin	15	46% verm

Tabelle 3: Folgende Substanzen zeigten eine Ergebnisverschiebung von mehr als ± 10 % bei einer Probe im Normalbereich. (Fortsetzung)

	Konzentration, bei der > 10 % Störsubstanzen	Beobachtete Interferenz (%)[A]
L-Dopa	5	13% verm
Methotextat	0,5	16 % verm
Nitrofurantoin	20	18% verm
Kreatinin		
Ascorbinsäure	20	11% verm
Dopamin	19	80% verm
L-Dopa	5	71% verm
Epinephrin	1	45% verm
Glutathion	30	13% verm
Glukose		
Oxalacetat	132	11% verm
Pyruvat	44	13% verm
Kalium		
Penicillin G	100	17% erh
Sulfadiazin	150	12% verm
Natrium		
Cephalothin	400	12% erh
Methotrexat	0,5	11% erh
Penicillin G	100	10% erh
Alanin-Aminotransferase (ALT)		
Ascorbinsäure	20	11 % erh*
Oxalacetat	132	843 % erh
Gesamtbilirubin (TBIL)		
Dopamin	19	55% verm
L-dopa	5	17% verm

[A] verm = verminderte Konzentration des angegebenen Analyten; erh = erhöhte Konzentration des angegebenen Analyten

11. Erwartete Werte

Proben von insgesamt 193 erwachsenen Männern und Frauen, die am Piccolo-Blutchemie-Analysesystem analysiert wurden, wurden zur Bestimmung der Referenzintervalle für ALT, Albumin, Amylase, Kalzium, Kreatinin, Glukose, Gesamtbilirubin und BUN verwendet. Zur Bestimmung des Referenzbereichs für die AST wurden von insgesamt 186 männlichen und weiblichen Erwachsenen Proben genommen. Zur Bestimmung des Referenzintervalls wurden Proben von 125-150 erwachsenen Männern und Frauen auf dem Piccolo-Blutchemie-Analysesystem auf Elektrolyte analysiert. Proben von 69 erwachsenen Männern und Frauen wurden auf dem Piccolo Xpress® Analysegerät für klinische Chemie auf CRP analysiert. Die Elektrolytbereiche wurden auf Basis des 95%-Referenzintervalls berechnet, das aus den kombinierten (Gesamt-) Werten der Referenzsubjekte geschätzt wurde, und der CRP-Bereich wurde auf Basis der gezeigten Übertragbarkeit der Referenzintervalle von Beckman errechnet.[80] Diese Intervalle dienen nur als Richtlinie. Wir empfehlen jeder Praxis oder Einrichtung die Aufstellung von Normalbereichen für ihre Patientenpopulation.

Tabelle 4: Piccolo-Referenzintervalle

Analyt	Konventionelle Einheiten	SI-Einheiten
Alanin-Aminotransferase (ALT)	10-47 U/L	10-47 U/L
Albumin (ALB)	3,3-5,5 g/dL	33-55 g/L
Amylase (AMY)	14-97 U/L	14-97 U/L

Tabelle 4: Piccolo-Referenzintervalle (Fortsetzung)

Analyt	Konventionelle Einheiten	SI-Einheiten
Aspartat-Aminotransferase (AST)	11-38 U/L	11-38 U/L
Kalzium (CA)	8,0-10,3 mg/dL	2,00-2,58 mmol/L
C-reaktives Protein	<7,5 mg/L	<7,5 mg/L
Kreatin-Kinase (Frauen)	30-190 U/L	30-190 U/L
Kreatin-Kinase (Männer)	39-380 U/L	39-380 U/L
Kreatinin	0,6-1,2 mg/dL	53-106 µmol/L
Glukose	73-118 mg/dL	4,1-6,6 mmol/L
Kalium	3,6-5,1 mmol/L	3,6-5,1 mmol/L
Natrium	128-145 mmol/L	128-145 mmol/L
Gesamtbilirubin (TBIL)	0,2-1,6 mmol/L	3,4-27,4 µmol/L
Harnstoff-Stickstoff (BUN)	7-22 mg/dL	2,5-7,9 mmol/L

12. Leistungsmerkmale

Linearität

Die Methodenkurve der einzelnen Analyten verläuft in dem hier präsentierten dynamischen Bereich linear, wenn das Piccolo Xpress® Analysesystem für klinische Chemie empfehlungsgemäß betrieben wird (siehe das Benutzerhandbuch für das Piccolo Xpress® Analysesystem für klinische Chemie).

Tabelle 5: Dynamische Bereiche des Piccolo-Systems

Analyt	Konventionelle Einheiten	SI-Einheiten
Alanin-Aminotransferase (ALT)	5-2000 U/L	5-2000 U/L
Albumin (ALB)	1-6,5 g/dL	10-65 g/L
Amylase (AMY)	5-4000 U/L	5-4000 U/L
Aspartat-Aminotransferase (AST)	5-2000 U/L	5-2000 U/L
Kalzium	4,0-16,0 mg/dL	1,0-4,0 mmol/L
C-reaktives Protein	5,0-200,0 mg/L	5,0-200,0 mg/l
Kreatin-Kinase	5-5.000 U/L	5-5.000 U/L
Kreatinin	0,2-20 mg/dL	18-1768 µmol/L
Glukose	10-700 mg/dL	0,6-38,9 mmol/L
Kalium	1,5-8,5 mmol/L	1,5-8,5 mmol/L
Natrium	110-170 mmol/L	110-170 mmol/L
Gesamtbilirubin (TBIL)	0,1-30 mmol/L	1,7-513 µmol/L
Harnstoff-Stickstoff (BUN)	2-180 mg/dL	0,7-64,3 mmol/L

Wenn die Analytkonzentration über dem Messbereich (dynamischer Bereich), aber unter dem Systembereich liegt, wird auf dem Ausdruck am oberen Ende das Zeichen „>" und ein Stern nach dem Zahlenwert gedruckt, wie beispielsweise GLU >700* U/L. Wenn das Ergebnis unterhalb des dynamischen Bereichs liegt, wird das Zeichen „<" mit einem Stern angezeigt, beispielsweise GLU <10* U/L. Bei Werten, die sehr weit unter dem Messbereich (Systembereich) liegen, wird anstelle eines Ergebnisses „~~~" gedruckt. Immer wenn „~~~" auf einem Ausdruck erscheint, muss eine neue Probe genommen und die Analyse wiederholt werden. Wenn auch für die zweite Probe kein Ergebnis gedruckt wird, rufen Sie bitte den technischen Kundendienst von Abaxis an.

Empfindlichkeit (Nachweisgrenzen)

Die untere Grenze des Ergebnisbereichs (dynamischer Bereich) für jeden Analyten ist: Alanin-Aminotransferase 5 U/L; Albumin 1 g/dL (10 g/L); Amylase 5 U/L; Aspartat-Aminotransferase 5 U/L; Kalzium 4,0 mg/dL (1,0 mmol/L); C-reactives Protein 5,0 mg/L; Kreatin-Kinase 5 U/L; Kreatinin 0,2 mg/dL (18 µmol/L); Glukose 10 mg/dL (0,6 mmol/L); Kalium 1,5 mmol/L; Natrium 110 mmol/L; Gesamtbilirubin 0,1 mg/dL (1,7 µmol/L); und Harnstoffstickstoff 2,0 mg/dL (0,7 mmol/L).

Präzision

Präzisionsuntersuchungen wurden nach den Richtlinien des CLSI EP5-A[81] mit Änderungen nach CLSI EP18-A[82] für am Behandlungsort eingesetzte Geräte durchgeführt. Die Ergebnisse wurden mit zwei Stufen von handelsüblichen Kontrollmaterialien für die Wiederholpräzision und die Gesamtpräzision ermittelt. Die Studien wurden mit mehreren Analysegeräten durchgeführt. Für die Elektrolyte wurden zwei Partien an Reagenzdisks verwendet und für das C-reaktive Protein eine Partie. Die Tests für Kreatin-Kinase, Kreatinin, Glukose, Natrium und Harnstoffstickstoff wurden an einem Ort, Tests für Kalium an zwei Orten über 20 Tage und Tests für C-reaktives Protein (Serum 1, Kontrolle 1 und Kontrolle 2) urden an zwei Orten über einen Zeitraum von fünf Tagen

durchgeführt. Die C-reaktiven Proteinserums 2 und 3 und Plasmas 1 und 2 wurden über einen Zeitraum von fünf Tagen an einem Standort durchgeführt.

Die Ergebnisse der Präzisionsstudien sind in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Präzision

Analyt	Probenumfang	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
Alanin-Aminotransferase (U/L)	N = 80		
Kontrolle 1			
Mittelwert		21	21
SD		276	2,79
% CV		13,4	13,5
Kontrolle 2			
Mittelwert		52	52
SD		270	3,25
% CV		5,2	6,2
Albumin (g/dL)	N = 80		
Kontrolle 1			
Mittelwert		5,6	5,6
SD		0,09	0,11
% CV		1,7	2,1
Kontrolle 2			
Mittelwert		3,7	3,7
SD		0,07	0,11
% CV		2,0	2,9
Amylase (U/L)	N = 80		
Kontrolle 1			
Mittelwert		46	46
SD		2,4	2,63
% CV		5,2	5,7
Kontrolle 2			
Mittelwert		300	300
SD		11,15	11,50
% CV		3,7	3,8
Aspartat-Aminotransferase (U/L)	N = 80		
Kontrolle 1			
Mittelwert		47	47
SD		0,98	1,84
% CV		2,1	3,9
Kontrolle 2			
Mittelwert		145	145
SD		1,83	4,62
% CV		1,3	3,2
Kalzium (mg/dL)	N = 80		
Kontrolle 1			
Mittelwert		8,6	8,6
SD		0,21	0,25
% CV		2,4	2,9
Kontrolle 2			
Mittelwert		11,8	11,8
SD		0,39	0,40
% CV		3,3	3,3
C-reaktives Protein (mg/L)			
Serum 1	N = 80		
Mittelwert		8,3	8,3
SD		0,70	0,81
% CV		8,4	9,8
Serum 2	N = 40		
Mittelwert		8,1	8,1

Tabelle 6: Präzision (Fortsetzung)

Analyt	Probenumfang	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
SD		0,49	0,51
% CV		6,1	6,3
Serum 3	N = 40		
Mittelwert		8,8	8,8
SD		0,54	0,54
% CV		6,2	6,2
C-reaktives Protein (mg/L)			
Plasma 1	N = 40		
Mittelwert		34,5	34,5
SD		1,04	1,09
% CV		3,0	3,2
Plasma 2	N = 40		
Mittelwert		105,5	105,5
SD		2,06	2,30
% CV		1,9	2,2
Kontrolle 1	N = 80		
Mittelwert		33,0	33,0
SD		1,21	2,12
% CV		3,7	6,4
Kontrolle 2	N = 80		
Mittelwert		108,0	108,0
SD		1,88	3,14
% CV		1,7	2,9
Kreatin-Kinase (U/L)	N = 120		
Kontrolle 1			
Mittelwert		134	134
SD		2,7	2,7
% CV		2,0	2,0
Kontrolle 2			
Mittelwert		526	526
SD		7,7	7,7
% CV		1,5	1,5
Kreatinin (mg/dL)	N=80		
Kontrolle 1			
Mittelwert		1,1	1,1
SD		0,14	0,14
% CV		12,5	13,1
Kontrolle 2			
Mittelwert		5,2	5,2
SD		0,23	0,27
% CV		4,4	5,2
Glukose (mg/dL)	N=80		
Kontrolle 1			
Mittelwert		66	66
SD		0,76	1,03
% CV		1,1	1,6
Kontrolle 2			
Mittelwert		278	278
SD		2,47	3,84
% CV		0,9	1,4
Kalium (mmol/L)	N = 120		
Kontrolle 1			
Mittelwert		6,12	6,12
SD		0,32	0,32
% CV		5,2	5,7

Tabelle 6: Präzision (Fortsetzung)

Analyt	Probenumfang	Innerhalb eines Laufs	Gesamt
Kontrolle 2			
Mittelwert		4,10	4,10
SD		0,24	0,26
% CV		5,9	6,3
Natrium (mmol/L)	N = 80		
Kontrolle 1			
Mittelwert		143,5	143,5
SD		2,28	2,28
% CV		1,6	1,6
Kontrolle 2			
Mittelwert		120,0	120,0
SD		2,13	2,13
% CV		1,8	1,8
Gesamtbilirubin (mg/dL)	N = 80		
Kontrolle 1			
Mittelwert		0,8	0,8
SD		0,06	0,07
% CV		8,0	9,3
Kontrolle 2			
Mittelwert		5,2	5,2
SD		0,09	0,15
% CV		1,7	2,8
Harnstoff-Stickstoff (mg/dL)	N = 80		
Kontrolle 1			
Mittelwert		19	19
SD		0,35	0,40
% CV		1,9	2,1
Kontrolle 2			
Mittelwert		65	65
SD		1,06	1,18
% CV		1,6	1,8

Korrelation

Es wurden Proben von Lithium-heparinisiertem Vollblut und Serum genommen, und es wurden Assays im Piccolo-Blutchemie-Analysesystem sowie mit einem oder mehreren Vergleichsverfahren für Chlorid, Kreatin-Kinase, Kreatin, Glukose, Kalium, Natrium und Harnstoff-Stickstoff durchgeführt. Die Vollblutproben wurden vor Ort im Piccolo-Blutchemie-Analysesystem analysiert, die Serumproben wurden im Piccolo-Blutchemie-Analysesystem und mit Vergleichsmethoden analysiert. In einigen Fällen wurden hohe und niedrige Ergänzungsproben zur Abdeckung des dynamischen Bereichs verwendet. Für CRP wurden Lithium-heparinisierte Plasmaproben mit dem Piccolo Xpress® Analysesystem für klinische Chemie und einer Vergleichsmethode getestet. Proben wurden entsprechend der Richtlinie CLSI EP9-A2 gewählt.[83]

Eine repräsentative Korrelationsstatistik ist in Tabelle 7 aufgeführt.

Tabelle 7: Korrelation des Piccolo-Blutchemie-Analysesystems oder des Piccolo Xpress® Analysesystems für klinische Chemie (für CRP) mit Vergleichsmethode(n)

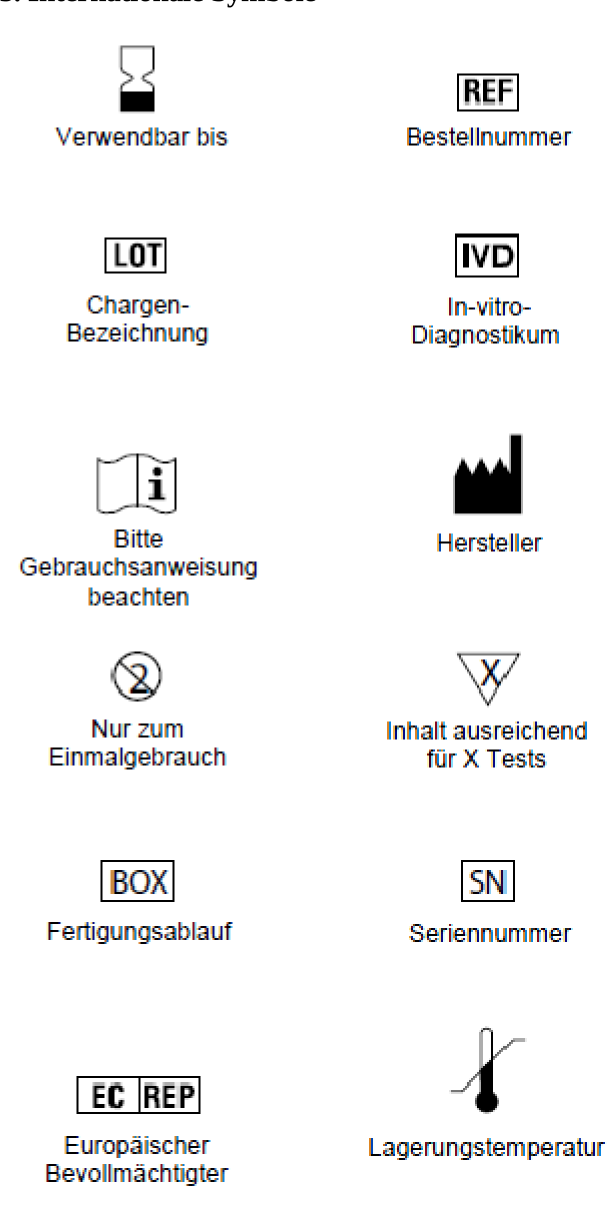
	Korrelations-koeffizient	Stei-gung	Schnitt-punkt	SEE	N	Proben-bereich	Vergleichs-methode
Alanin-Aminotransferase (U/L)	0,981	0,905	1,3	3,21	86	10-174	Paramax®
	0,985	0,946	-2,5	2,84	67	10-174	Technicon
Albumin (g/dL)	0,854	1,001	-0,3	0,22	261	1,1-5,3	Paramax
	0,896	0,877	-0,1	0,21	100	1,5-5,0	Beckman
Amylase (U/L)	0,979	0,692	-4,7	3,11	99	11-92	Paramax
	0,963	1,065	-4,1	3,47	80	19-118	Technicon
Aspartat-Aminotransferase (U/L)	0,93	0,87	5,3	2,76	159	13-111	Paramax
	1,0	0,97	3,0	1,9	46	13-252	DAX™
Kalzium (mg/dL)	0,991*	0,990	-0,4	0,17	25	5,2-11,9	Paramax
	0,673	0,742	1,8	0,22	81	8,1-9,9	Beckman
C-reaktives Protein (mg/L)	0,998	0,990	-0,4	4,6	113	5,4-198,6	Beckman
Kreatin-Kinase (U/L)	0,967	1,194	-25	9,05	47	6-813	Cobas Fara®
Kreatinin (mg/dL)	0,993	0,926	0,0	0,5	260	0,4-14,7	Paramax
	0,987	0,866	0,1	0,16	107	0,4-7,5	Beckman
Glukose (mg/dL)	0,987	1,009	-2,8	3,89	251	72-422	Paramax
	0,997	0,943	1,2	4,69	91	56-646	Beckman
Kalium (mmol/L)	0,969	0,863	0,6	0,4	58	2,0-6,8	Radiometer KNA 2
Natrium (mmol/L)	0,937	0,782	27,7	3,9	113	116-154	Radiometer KNA 2
Gesamtbilirubin (mg/dL)	0,974	0,901	0,0	0,07	250	0,2-3,7	Paramax
	0,980	1,113	-0,4	0,09	91	0,1-6,4	Beckman
Harnstoff-Stickstoff (mg/dL)	0,964	0,923	0,5	1,08	251	6-52	Paramax
	0,983	0,946	0,0	0,66	92	6-38	Beckman

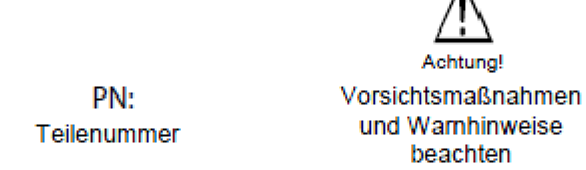
Tabelle 8: Probentyp-Korrelation für CRP
Für das CRP-Tesverfahren ergab die Deming-Regressionsanalyse für den Probentyp die folgenden Ergebnisse bei n = 21.

Y-Achse	X-Achse	R^2	Steigung	Schnitt-punkt
Lithium-heparinisiertes Plasma	Lithium-heparinisiertes Vollblut	1,000	0,995	0,2
Serum	Lithium-heparinisiertes Vollblut	0,999	1,005	0,5
Serum	Lithium-heparinisiertes Plasma	0,999	1,010	0,3

Es wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen Lithium-heparinisiertem Vollblut, Lithium-heparinisiertem Plasma und Serumergebnissen für CRP festgestellt.

13. Internationale Symbole





14. Literaturverzeichnis

1. Tonhazy NE, NG White, WW Umbreit. A rapid method for the estimation of the glutamic-aspartic transaminase in tissues and its application to radiation sickness. Arch Biochem 1950; 28: 36-42.
2. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. Am J Clin Pathol 1957; 28: 56-63.
3. Murray RL. Alanine aminotransferase. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and orrelation, 2nd ed. Kaplan LA,Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 895-898.
4. Wróblewski F, LaDue JS. Serum glutamic-pyruvic transminase in cardiac and hepatic disease. Proc Soc Exp Biol Med 1956; 91: 569-571.
5. Bergmeyer HU, Horder M. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1980; 18: 521-534.
6. Howe PE. The use of sodium sulfate as the globulin precipitant in the determination of proteins in blood. J Biol Chem 1921; 49: 93-107.
7. Howe PE. The determination of proteins in blood — a micro method. J Biol Chem 1921; 49: 109-113.
8. Wolfson WQ, et al. A rapid procedure for the estimation of total protein, true albumin, total globulin, alpha globulin, beta globulin and gamma globulin in 10 ml of serum. Am J Clin Pathol 1948; 18: 723-730.
9. Saifer A, Gerstenfeld S, Vacsler F. Photometric microdetermination of total serum globulins by means of a tryptophan reaction. Clin Chem 1961; 7: 626-636.
10. Saifer A, Marven T. The photometric microdetermination of serum total globulins with a tryptophan reaction: a modified procedure. Clin Chem 1966; 12: 414-417.
11. Gendler SM, Albumin. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1029-1033.
12. Webster D, Bignell AHC, EC Attwood. An assessment of the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin. Clin Chim Acta 1974; 53: 101-108.
13. Louderback A, Mealey EH, NA Taylor. A new dye-binding technic using bromcresol purple for determination of albumin in serum. Clin Chem 1968; 14: 793-794. (Abstract)
14. Pinnell AE, Northam BE. New automated dye-binding method for serum albumin determination with bromcresol purple. Clin Chem 1978; 24: 80-86.
15. McNeely MDD. Amylase. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 906-909.
16. Zinterhofer L, et al. Nephelometric determination of pancreatic enzymes. I. Amylase. Clin Chim Acta 1973; 43: 5-12.
17. Centers for Disease Control (CDC). Alpha-amylase methodology survey I. Atlanta: US Public Health Service; Nov, 1975.
18. Somogyi M. Modifications of two methods for the assay of amylase. Clin Chem 1960; 6: 23-35.
19. Gillard BK, Markman HC, Feig SA. Direct spectro-photometric determination of □-amylase activity in saliva, with p-nitrophenyl □-maltoside as substrate. Clin Chem 1977; 23: 2279-2282.
20. Wallenfels K,et al. The enzymic synthesis, by transglucosylation of a homologous series of glycosidically substituted malto-oligosaccharides, and their use as amylase substrates. Carbohydrate Res 1978; 61: 359-368.
21. Karmen A. A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. J Clin Invest 1955; 34: 131-133.
22. Bergmeyer, HU, et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem 1977; 23: 887-899.
23. Bergmeyer HU, Hørder M, Moss DW. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. Revised IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem 1978; 24: 720-721.
24. Kramer B, Tisdall FF. A simple technique for the determination of calcium and magnesium in small amounts of serum. J Biol Chem 1921; 47: 475-481.
25. Clark EP, Collips JB. A study of the Tisdall method for the determination of blood serum calcium with suggested modification. J Biol Chem 1925; 63: 461-464.
26. Katzman E, Jacobi M. The determination of serum calcium by titration with ceric sulfate. J Biol Chem 1937; 118: 539-544.
27. Cali JP, et al. A reference method for the determination of total calcium in serum. In: GR Cooper, ed., Selected Methods of Clinical Chemistry, vol 8. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1997: 3-8.
28. Kessler G, M Wolfman. An automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorus. Clin Chem 1964; 10: 686-703.
29. Michaylova V, Ilkova P. Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. Anal Chim Acta 1971; 53: 194-198.

14. Literaturverzeichnis (Fortsetzung)

30. Scarpa A, et al. Metallochromic indicators of ionized calcium. Ann NY Acad Sci 1978; 307: 86-112.
31. Macy E, Hayes T, Tracy R. Variability in the measurement of c-reactive protein in healthy subjects: implications for reference interval and epidemiological applications. Clin. Chem. 1997; 43: 52-58.
32. Rifai N, Tracy RP, Ridker PM. Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C-reactive protein assay. Clin Chem 1999; 45: 2136-2141.
33. Roberts WL, Moulton L, Law TC, Farrow G, Cooper-Anderson M, Savory J, Rifai N. Evaluation of nine automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. Part 2. Clin Chem. 2001; 47: 418–425.
34. Kuby SA, Noda, L and Lardy HA. Adenosinetriphosphate-creatine transphosphorylase. J. Biol Chem. 1954; 209: 191-201.
35. Tanzer Ml And Gilvarg C. Creatine and creatine kinase measurement. J Biol Chem. 1959; 234: 3201-3204.
36. Nuttall FQ And Wedin DS. A simple rapid colorimetric method for determination of creatine kinase activity. J Lab Clin Med. 1966; 68: 324-332.
37. Oliver IT. A spectrophotometric method for the determination of creatine phosphokinase and myokinase. Biochem J. 1955; 61: 116-122.
38. Rosalki SB. An improved procedure or serum creatine phosphokinase determination. J Lab Clin Med. 1967; 69: 696-705.
39. Szasz G, Gruber W and Bernt E. Creatine kinase in serum: I. Determination of optimum reaction conditions. Clin Chem. 1976; 22: 650-656.
40. Expert Panel On Enzymes, Committee Of Standards (IFCC). 1979 Approval Recommendations Of IFCC Methods For The Measurement Of Catalytic Concentrations Of Enzymes, Part 1. General Considerations. Clin Chim Acta. IFCC Sections: 98: 163-174.
41. Committee On Enzymes Of The Scandinavian Society For Clinical Chemistry And Clinical Physiology. 1976. Recommended Method For The Determination Of Creatine Kinase In Blood. Scand J. Clin Lab Invest. 36: 711-723.
42. Knoll VE, et al. Spezifische kreatininbetimmung im serum. Z Klin Chem Klin Biochem. 1970; 8: 582-587.
43. Haeckel R, et al. Simplified determinations of the “true” creatinine concentration in serum and urine. J Clin Chem Clin Biochem. 1980; 18: 385-394.
44. Moss GA, et al. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. Clin Chem. 1975; 21: 1422-1426.
45. Jaynes PK, et al. An enzymatic, reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyzer. Clin Chem. 1982; 28: 114-117.
46. Fossati P, et al. Enzymatic creatinine assay: a new colorimetric method based on hydrogen peroxide measurement. Clin Chem. 1983; 29: 1494-1496.
47. Whelton A, et al. Nitrogen metabolites and renal function. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Ed. Burtis CA, and Ashwood ER, Eds. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994; 1513-1575.
48. Folin O, et al. A system of blood analysis. J Biol Chem. 1919; 38: 81-110.
49. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. J Biol Chem. 1937; 117: 771-776.
50. Nelson N, et al. A photometric adaption of the Somogyi method for the determination of glucose. J Biol. 1944; 153: 375-380.
51. Kaplan LA. Glucose. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, AJ Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989; 850-856.
52. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. Clin Chem. 1989; 35: 817-820.
53. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. Clin Chem. 1994; 40: 846-847.
54. Hubl W, et al. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraprteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion selective electrodes. Clin Chem. 1994; 40: 1528-1531.
55. Helgerson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. J Amer Chem Soc. 1989; 111: 6339-6350.
56. Kumar A, et al. Chromogenic ionophere-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. Clin Chem. 1988; 34: 1709-1712.
57. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. Clin Chem. 1988; 34: 2295-2298.
58. Malloy HT, Evelyn KA. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J Biol Chem 1937; 119: 481-490.
59. Meites S. Bilirubin, direct reacting and total, modified Malloy-Evelyn method. In: Selected Methods of Clinical Chemistry, vol. 9. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, DC: American Association for Clinical Chemistry. 1982: 119-124.58.

14. Literaturverzeichnis (Fortsetzung)

60. Murao S Tanaka N. A new enzyme “bilirubin oxidase” produced by Myrothecium verrucaria MT-1. Agric Biol Chem 1981; 45: 2383-2384.
61. Osaki S, Anderson S. Enzymatic determination of bilirubin. Clin Chem 1984; 30: 971. (Abstract
62. Perry B, et al. of total bilirubin by use of bilirubin oxidase. Clin Chem 1986; 32: 329-332.
63. Fales FW. Urea in serum, direct diacetyl monoxime method. In: Selected Methods of Clinical Chemistry, vol 9. Faulkner WR, Meites S, eds. Washington, DC.: American Association for Clinical Chemistry. 1982; 365-373.
64. Van Slyke, et al. A permanent preparation of urease, and its use in the determination of urea. J Biol Chem. 1914; 19: 211-228.
65. Fawcett JK, et al. A rapid and Precise method for the determination of urea. J Clin Pathol. 1960; 13: 156-159.
66. Chaney, et al. Urea and ammonia determinations. Clin Chem. 1962; 8: 130-132.
67. Talke H, et al. Enzymatische Harnstoffbestimmung in Blut and Serum im optischen Test nach Warburg. Klin Wochensch. 1965; 43: 174-175.
68. Hallett, et al. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-coupled reaction for emergency blood urea estimation. Clin Chim Acta. 1971; 35: 33-37.
69. Patton, et al. Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. Anal Chem. 1977; 49: 464-469.
70. Sampson EJ, et al. A coupled-enzyme equilibrium method for the measuring urea in serum: optimization and evaluation of the AACC study group on Urea Candidate reference method. Clin Chem. 1980; 26: 816-826.
71. Scott, M.G. Electrolytes and Blood Gases. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Burtis CA, Ashwood ER, eds. Philadelphia: WB Saunders Company. 1999; 1058-1059.
72. Clinical and Laboratory Standards Institute. Procedures for the handling and processing of blood specimens; tentative standard. CLSI Document H18-A2. Wayne, PA: CLSI, 1999.
73. Overfield CV, et al. Glycolysis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. Clin Chim Acta. 1972; 39: 35-40.
74. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. Clin Chem. 1988; 34-2111-4.
75. Sherwin JE, Obernolte R. Bilirubin. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 1009-1015.
76. Henry RJ, Cannon DC, Winkelman JW. Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2nd ed. New York: Harper and Row. 1974: 417-421; 1058-1059.
77. Macy E, Hayes T, Tracy R. Variability in the measurement of c-reactive protein in healthy subjects: implications for reference interval and epidemiological applications. Clin. Chem. 1997; 43: 52-58.
78. Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. CLSI Document EP7-A. Wayne, PA: CLSI, 2002.
79. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3rd ed. Washington, DC: AACC Press, 1990.
80. Clinical and Laboratory Standards Institute. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory, approved guidelines, 2nd ed. CLSI Document C28-A3. Wayne, PA: CLSI, 2008.
81. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. CLSI Document EP5-A. Wayne, PA: CLSI, 1999.
82. Clinical and Laboratory Standards Institute. Quality management for unit-use testing; proposed guideline. CLSI Document EP18-A. Wayne, PA: CLSI, 2002.
83. Clinical and Laboratory Standards Institute. Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline. CLSI Document EP9-A2. Wayne, PA: CLSI, 2002.